Poltekita: Jurnal Ilmu Kesehatan
http://jurnal.poltekkespalu.ac.id/index.php/JIK

Vol.15 No.1 Mei 2021: Hal. 76-83
p-ISSN: 1907-459X e-ISSN: 2527-7170

Original Article

Variasi Suhu Inkubasi Mempengaruhi Jumlah Sel Vegetatif Dan Spora Bacillus Sphaericus

Incubation Temperature Variation Affecting the Number of Vegetative Cells and Spora Bacillus Sphaericus

Yunan Jiwintarum*[1], Maruni Wiwin Diarti[1], Baiq Lely Zaeniati[2]
[1]Poltekkes Kemenkes Mataram
[2]Instalasi Litbang RSUP NTB
(*yujijiwintarum@gmail.com)

ABSTRAK

Aplikasi Bacillus sphaericus di lapang ditentukan oleh adanya inklusi kristal pada spora Bacillus sphaericus dan semua strain Bacillus sphaericus yang bersifat toksik terhadap nyamuk. Jumlahinklusi kristal pada spora dan sel vegetative Bacillus sphaericus sangat dipengaruhi oleh lingkungan inkubasinya, salah satunya adalah suhu inkubasi.Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi waktu inkubasi terhadap jumlah sel vegetatif dan spora Bacillus sphaericus" pada media NYSM padat dan media NYSM cair.Penelitian ini merupakan penelitian Pre eksperimental di laboratorium, menggunakan 10 macam perlakuan variasi waktu inkubasi yaitu suhu 37 oC selama 1 hari, 2 hari, 3 hari,4 hari,5 hari, 6 hari, 7 hari,8 hari,9 hari dan 10 hari pada media NYSM padat dan NYSM cair. Data yang diambil yaitu jumlah sel vegetative Bacillus sphaericus dan jumlah spora Bacillus sphaericus Data dianalisisis secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan hari pertama dan kedua (1 hari dan 2 hari) rerata jumlah sel vegetative 85,7 sel dan spora 14,3 spora. hari ke 3 sampai dengan ke -10 secara berurutan jumlah sel vegetative adalah 60,7; 36,4 ,18,4 ;10,4, 8,4;7,7dan 0. Jumlah Spora Bacillus sphaericus secara berurutan mulai hari ke-3 sampai dengan hari ke-10 adalah 39,4 ,63,7 ,81,7, 89,7, 91,7 ,92,3 dan 100. Kesimpulan yaitu semakin lamanya waktu inkubasi menyebabkan jumlah sel vegetative semakin berkurang dan jumlah spora semaki bertambah.

Kata kunci: Bacillus sphaericus, Inkubasi, Spora, Sel vegetative

ABSTRACT

The application of Bacillus sphaericus in the field was determined by crystal inclusions in Bacillus sphaericus spores and all Bacillus sphaericus strains toxic to mosquitoes. The number of crystalline inclusions in the spores and vegetative cells of Bacillus sphaericus is strongly influenced by the incubation environment, one of which is the incubation temperature. This study aims to determine the effect of variations in incubation time on the number of vegetative cells and spores of Bacillus sphaericus on solid NYSM media and liquid NYSM media. This research is pre-experimental in the laboratory, using ten kinds of treatment with variations in incubation time, namely 37 ° C for one day, two days, three days, four days, five days, six days, seven days, eight days, nine days and ten days. On solid and liquid NYSM media. The data taken were the number of Bacillus sphaericus vegetative cells and the number of Bacillus sphaericus spores. Data were analyzed descriptively. The results showed that on the first and second days (1 day and 2 days) the mean number of vegetative cells was 85.7 cells and spores 14.3 spores. days 3 to -10, respectively, the number of vegetative cells was 60.7; 36,4, 18,4; 10,4, 8,4; 7,7 and 0. The number of Bacillus sphaericus spores sequentially from day 3 to day 10 were 39,4, 63,7, 81, 7, 89,7, 91,7, 92,3 and 100. Conclusion the longer the incubation time causes the number of vegetative cells to decrease and the number of spores to grow.

Key words: *Bacillus sphaericus, Incubation, Spores, Vegetative Cells*

https://doi.org/10.33860/jik.v15i1.415

PENDAHULUAN

Mikroorganisme ada di berbagai lingkungan. Namun jenis dan sifat dari setiap bakteri pada setiap lingkungan berbeda-beda. Kemampuan mikroorganisme untuk tumbuh dan tetap hidup merupakan hal yang penting dalam ekosistem.Ada berbagai macam faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme diantaranya adalah faktor fisika, kimia, nutrisi, dan faktor intern dari mikroorgisme itu sendiri. Salah satu contoh faktor fisika adalah suhu dan lama waktu inkubasi. Suhu dan lama waktu inkubasi dapat mempengaruhi fase pertumbuhan bakteri, kecepatan pertumbuhan, konsentrasi sel, kebutuhan nutrisi, kegiatan enzimatis, dan komposisi sel mikroorganisme [(1).] Suhu dan lama inkubasi dapat dipergunakan untuk mengendalikan pertumbuhan dan kegiatan bakteri. Suhu dan lama inkubasi di atas suhu maksimal dan waktu inkubasi maksimal akan bersifat mematikan bagi pertumbuhannya. Sedangkan jika suhu dan lama inkubasi diturunkan dibawah suhu maksimal dan lama waktu inkubasi maksimal akan memperpanjang fase lag pertumbuhannya. Salah satu sebab kematian bakteri adalah tergantung dari suhu pertumbuhan optimum dan lama waktu inkubasi maksimum bakteri tersebut. Dengan mengetahui suhu dan lama waktu inkubasi optimum, minimum dan maksimum dari bakteri tertentu, dapat diketahui cara pembiakan mikroorganisme dengan baik. *Bacillus sphaericus* pertama kali diisolasi oleh Kellen dan Meyers (1964) dari tubuh larva mati *Culiseta incidens* di California, Amerika Serikat. Dari larva tersebut didapatkan dua strain yaitu K dan Q, yang memiliki daya bunuh yang rendah terhadap serangga.[(2)] *Bacillus sphaericus* merupakan bakteri yang bersifat Gram positif, berbentuk batang, dan mampu membentuk endospora terminal (di ujung sel) dengan sporangium yang membesar (*swollen sporangium*) yang dapat diisolasi dari tanah [(3)]. Adanya inklusi kristal pada *Bacillus sphaericus* dilaporkan pertama kali oleh Davidson (1981). Kristal ini dicurigai berperan dalam aktivitas *Bacillus Sphaericus* yang menyebabkan kematian larva nyamuk. Semua strain *Bacillus sphaericus* yang bersifat toksik terhadap nyamuk dapat menghasilkan kristal parasporal. Bakteri *Bacillus sphaericus* dapat ditumbuhkan pada beberapa jenis media pertumbuhan. Media yang umum digunakan adalah media *NYSM*[(4)] dan *MBS*[(5)]. Dengan menggunakan medium pertumbuhan tersebut biakan bakteri *Bacillus sphaericus* akan mencapai fase stasioner pada 12-24 jam dan sporulasi akan tercapai setelah 24 jam (konsentrasi biakan mebihi 10^9 sel/mL). Medium lain yang dapat digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Bacillus Sphaericus* adalah medium *NYST* (*NY Agar/NY Broth*, $MnCl_2$, $CaCl_2$, dan $MgCl_2$) yang mengandung Streptomycin 100 µg/mL. Medium yang lain adalah *BATS* (Na_2HPO_4, K_2HPO_4, $MgSO_4$, $MnCl_2$, $FeSO_4$, $CaCl_2$, L-Arginin, Thiamin dan Biotin) yang merupakan medium selektif yang diperkaya, untuk menumbuhkan dan menyuburkan pertumbuhan bakteri *Bacillus sphaericus* yang diisolasi dari tanah [(6)]. Aplikasi *Bacillus sphaericus* di lapang ditentukan oleh adanya inklusi kristal pada spora *Bacillus sphaericus* dan semua strain *Bacillus sphaericus* yang bersifat toksik terhadap nyamuk dapat menghasilkan kristal parasporal pada sporanya pada proses sporulasi, maka perlu dilakukan suatu penelitian untuk mengetahui jumlah sel *vegetative* dan spora yang dihasilkan oleh *Bacillus sphaericus* pada pada kondisi suhu dan waktu inkubasi optimum dan menggunakan variasi lama inkubasi. *Bacillus sphaericus* memiliki spora untuk mempertahankan hidupnya, untuk pertumbuhan bakteri memerlukan suhu dan waktu inkubasi yang optimum.Studi pendahuluan yang dilaksanakan di laboratorium instalasi litbang RSUD Provinsi NTB membuktikan adanya pengaruh antara lama waktu inkubasi terhadap jumlah sel *vegetative* dan spora *Bacillus sphaericus*. Pengamatan yang dilakukan selama 15 hari membuktikan bahwa pada hari ke 9 waktu inkubasi menunjukkan jumlah spora yang terbanyak, setelah 10 hari jumlah spora mulai menurun kembali. Untuk lebih mempelajari secara ilmiah bentuk morfologi sel *vegetative* dan spora *Bacillus sphaericus* terkait dengan variasi waktu inkubasi baik pada media padat dan media cair dan untuk menguatkan hasil studi pendahuluan sehingga secara ilmiah dapat memberikan informasi yang dipercaya maka perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh variasi waktu inkubasi terhadap jumlah sel vegetatif dan spora *Bacillus sphaericus* yang diinokulasi pada media NYSM padat dan media NYSM cair. Manfaat dari penelitian ini dapat sebagai sumber informasi ilmiah mengenai pengaruh variasi waktu inkubasi terhadap jumlah sel vegetatif dan spora *Bacillus sphaericus*, sehingga dapat digunakan sebagai rujukan untuk memperkaya teori

tentang pengaruh variasi waktu inkubasi terhadap jumlah sel vegetatif dan spora *Bacillus sphaericus* dan sebagai acuan dalam memperbanyak bakteri *Bacillus sphaericus* terutama kaitannya antara variasi waktu inkubasi terhadap jumlah sel vegetatif dan spora *Bacillus sphaericus*, sehingga dapat digunakan sebagai rujukan untuk memperkirakan waktu inkubasi yang paling baik yang dapat menghasikan jumlah spora dengan Kristal toksin yang maksimum untuk pemanfaatan aplikatif pengaruh variasi waktu inkubasi terhadap jumlah sel vegetatif dan spora *Bacillus sphaericus*.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksploratorik di laboratorium yang dilakukan di Laboratorium Unit Riset Biomedik RSUP NTB Tahun 2019. Penelitian ini menggunakan 10 macam perlakuan variasi waktu inkubasi, pada NYSM padat dan NYSM cair.Besar unit experimen di tentukan dengan menggunakan rumus *fedeerer* yaitu $(t-1)(r-1) \geq 15$ dengan jumlah 33 unit percobaan. Teknik pengambilan sampel dilakukan dengan cara *Non-Random Purpusive Sampling*, yaitu pengambilan sampel yang ditentukan berdasarkan kriteria yang dibuat oleh peneliti. Karena penelitian ini menggunakan perlakuan variasi waktu inkubasi, dimana waktu yang digunakan harus tepat diperiksa, maka kriteria pengambilan sampel ditetapkan berdasarkan urutan waktu inkubasi dengan replikasi yang dilakukan bersamaan pada masing – masing perlakuan variasi lama waktu inkubasi.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi waktu inkubasi dan variabel terikat dalam penelitian ini adalah: jumlah sel *vegetative Bacillus sphaericus* dan jumlah spora *Bacillus sphaericus*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari: Isolat *Bacillus sphaericus* yang digunakan : Isolat *Bacillus sphaericus* yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Bacillus sphaericus* isolat MNT mampu membunuh larva nyamuk *Culex*, *Anopheles*,dan *Aedes* instar III yang dilakukan di laboratorium.

Jenis media yang digunakan: Jenis media yang digunakan adalah: Medium NYSM (Nutrient Broth 8,0 g/L; Yeast extract 0,5 g/L; $MgCl_2$ 0,2 g/L; $MnCl_2$ 0,01 g/L; dan $CaCl_2$ 0,1 g/L), untuk pembuatan media NYSM padat dengan menambahkan 15gram agar – agar putih dalam 1000 ml komposisi media NYSM broth. NaCl 0,9% atau garan fisiologis (PZ), Aquades steril, Alat penelitian, *Autoclave, Oven, Incubator*,Cawan petri,Tabung reaksi,Rak tabung reaksi, Labu erlenmeyer, Beaker glas, Mortar, Neraca analitik, Ose, *Blue tape*,Swab kapas, Mistar, *Laminar flow*.

Metode

Prosedur Pembiakan: Stok isolat *Bacillus spharicus* yang memiliki aktivitas larvasida diremajakan dengan menumbuhkannya pada medium NYSM padat pada suhu 30 ^oC selama 24 jam. Membiakan / inokulasi *Bacillus sphaericus* murni pada media NYSM agar dan broth sesuai dengan perlakuan, dengan cara: Menyiapkan media NYSM agar dan broth masing – masing sebanyak 3 buah tiap – tiap perlakuan. Menginokulasikan 10 ul suspense biakan murni *Bacillus sphaericus* pada media NYSM padat dengan teknik spread dan pemencilan dan pada media NYSM broth dengan teknik penuangan menggunakan mikropipet. Menginkubasi selama waktu inbubasi yaitu:

T0: *Bacillus sphaericus* tanpa inkubasi.

T1: inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ^oC selama 1 hari.

T2: inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ^oC selama 2 hari.

T3: inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ^oC selama 3 hari.

T4: inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ^oC selama 4 hari.

T5: inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ^oC selama 5 hari.

T6: inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ^oC selama 6 hari.

T7: inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ^oC selama 7 hari.

T8: inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ^oC selama 8 hari.

T9: inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ^oC selama 9 hari.

T10: inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ^oC selama 10 hari.

Membuat daerah hitung seluas 1 cm^2 pada objek glass, selanjutnya diambil 10 ul suspense *Bacillus sphaericus* dari masing masing perlakuan , di buat hapusan seluas 1 cm^2 dilakukan pewarnaan Gram dan Spora dan dilakukan perhitungan jumlah sel *vegetative* dan spora *Bacillus sphaericus*. Perhitungan jumlah sel *vegetative* dan spora dihitung dengan menggunakan metode slide.[(9)] Data yang diperoleh jumlah sel vegetatif *Bacillus*

sphaericus akan berkurang dan spora *Bacillus sphaericus* dianalisis secara deskriptif dengan melihat porsentase dari sel vegetatif *Bacillus sphaericus* akan berkurang dan spora *Bacillus sphaericus* setiap variasi waktu inkubasi pada media NYSM padat dan media NYSM cair.

HASIL

Tabel 1 dan tabel 2 menunjukkan jumlah sel *vegetative* dan spora *Bacillus sphaericus* yang dihitung dengan menggunakan metode langsung (*slide*) dengan luas daerah hitung 1 cm^2 yang diwarnai dengan pewarnaan Spora dan Gram pada media NYSM padat terdapat perbedaan. Semakin lama waktu inkubasi maka jumlah sel *vegetative* bakteri semakin sedikit dan jumlah spora semakin banyak. Dari tabel tersebut juga menunjukkan bahwa pada hari pertama dan kedua (1 hari dan 2 hari) waktu inkubasi terdapat rerata jumlah sel *vegetative* 85,7 sel (85,7%) dan spora 14,3 spora (14,3%). Pada hari ketiga dan seterusnya sampai dengan hari ke 10 waktu inkubasi menunjukkan hasil jumlah perhitungan sel *vegetative* bakteri mulai hari ke 3 sampai dengan ke -10 secara berurutan adalah 60,7 (60,7%) ; 36,4 (36,4%),18,4 (18,4%) ;10,4 (10,4%), 8,4 (8,4%);7,7 (7,7%) ,0 (0%) , dan 0 (0%).

Jumlah Spora *Bacillus sphaericus* secara berurutan mulai hari ke-3 sampai dengan hari ke-10 adalah 39,4 (39,4%) ,63,7 (63,7%) ,81,7 (81,7%), 89,7 (89,7%), 91,7 (91,7%),92,3 (92,3%),100 (100%), dan 100 (100%). Data Jumlah sel *vegetative* dan spora *Bacillus sphaericus* yang dihitung dengan menggunakan metode langsung (*slide*) dengan luas daerah hitung 1 cm^2 yang diwarnai dengan pewarnaan Spora dan Gram pada media NYSM cair dapat dilihat pada tabel 3 dan 4.

Tabel 3 dan tabel 4 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah sel *vegetative* dan spora *Bacillus sphaericus* yang dihitung dengan menggunakan metode langsung (*slide*) dengan luas daerah hitung 1 cm^2 yang diwarnai dengan pewarnaan Spora pada media NYSM cair. Semakin lama waktu inkubasi maka jumlah sel *vegetative* bakteri semakin sedikit dan jumlah spora semakin banyak.Pada tabel tersebut juga menunjukkan bahwa pada hari pertama dan kedua (1 hari dan 2 hari) waktu inkubasi terdapat rerata jumlah sel *vegetative* 100 sel (100%) dan spora 0 spora (0%). Pada hari ketiga dan seterusnya sampai dengan hari ke 10 waktu inkubasi menunjukkan hasil jumlah perhitungan sel *vegetative* bakteri mulai hari ke 3 sampai dengan ke -10 secara berurutan adalah 99,7 (99,7%), ,98 (98%),96,7 (96,7%),90 (90%),89,4 (89,4%),80 (80%),7 (7%), dan 0 (0%).

Jumlah Spora *Bacillus sphaericus* secara berurutan mulai hari ke-3 sampai dengan hari ke-10 adalah 0,4 (0,4%),2 (2%),3,4 (3,4%) ,3,4 (3,4%) ,10 (10%) ,10,7 (10,7%) ,22,7(22,7%) dan 100 (100%). Pada media cair jumlah spora bakteri yang terbentuk walaupun menunjukkan semakin lama waktu inkubasi terjadi peningkatan jumlah, namun lebih lambat dan lebih sedikit dibandingkan pada media NYSM padat (Tabel 4).

Tabel 1 Jumlah sel *vegetative* Bacillus *sphaericus* pada media NYSM padat

Replikasi	Jumlah Sel Vegetatif berdasarkan lama inkubasi pada media NYSM padat									
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
R1	83	83	59	34	30	10	5	5	0	0
R2	87	87	63	44	15	8	10	8	0	0
R3	87	87	60	31	10	13	10	10	0	0
Total	257	257	182	109	55	31	25	23	0	0
Rerata	85.7	85.7	60.7	36.4	18.4	10.4	8.4	7.7	0	0
%	85.7	85.7	60.7	36.4	18.4	10.4	8.4	7.7	0	0

Keterangan:
T1 : inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ºC selama 1 hari.
T2 : inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ºC selama 2 hari.
T3 : inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ºC selama 3 hari.
T4 : inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ºC selama 4 hari.
T5 : inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ºC selama 5 hari.
T6 : inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ºC selama 6 hari.

T7 : inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ºC selama 7 hari.
T8 : inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ºC selama 8 hari.
T9 : inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ºC selama 9 hari.
T10 : inkubasi *Bacillus sphaericus* suhu 37 ºC selama 10 hari.
R1 : Replikasi 1
R2 : Replikasi 2
R3 : Replikasi 3

Tabel 2 Jumlah spora*Bacillus sphaericus* pada media NYSM padat

Replikasi	**Jumlah Spora berdasarkan lama inkubasi pada media NYSM padat**									
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
R1	17	17	41	66	70	90	95	95	100	100
R2	13	13	37	56	85	92	90	92	100	100
R3	13	13	40	69	90	87	90	90	100	100
Total	43	43	118	191	245	269	275	277	300	300
Rerata	14,3	14,3	39.4	63,7	81,7	89.7	91,7	92,3	100	100
%	14,3	14,3	39.4	63,7	81,7	89.7	91,7	92,3	100	100

Tabel 3 Jumlah sel *vegetative Bacillus sphaericus* pada media NYSM cair

Replikasi	**Jumlah sel *vegetative Bacillus sphaericus* pada media NYSM cair**									
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
R1	100	100	100	98	96	96	91	92	68	0
R2	100	100	100	97	95	95	89	86	85	0
R3	100	100	99	99	99	99	90	90	89	0
Total	300	300	299	294	290	290	270	268	242	0
Rerata	100	100	99.7	98	96.7	96.7	90	89.4	80.7	0
%	100	100	99.7	98	96.7	96.7	90	89.4	80.7	0

Tabel 4 Jumlah sel *vegetative Bacillus sphaericus* pada media NYSM cair

Replikasi	**Jumlah Spora berdasarkan lama inkubasi pada media NYSM cair**									
	1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
R1	0	0	0	2	4	4	9	8	32	15
R2	0	0	0	3	5	5	11	14	15	10
R3	0	0	1	1	1	1	10	10	21	13
Total	0	0	1	6	10	10	30	32	68	300
Rerata	0	0	0.4	2	3.4	3.4	10	10.7	22.7	100
%	0	0	0.4	2	3.4	3.4	10	10.7	22.7	100

PEMBAHASAN

Kemampuan mikroorganisme untuk tumbuh dan tetap hidup merupakan hal yang penting dalam ekosistem. Ada berbagai macam faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme diantaranya adalah faktor fisika, kimia, nutrisi, dan faktor intern dari mikroorgisme itu sendiri. Salah satu contoh faktor fisika adalah suhu dan lama waktu inkubasi. Suhu dan lama waktu inkubasi dapat mempengaruhi fase pertumbuhan bakteri, kecepatan pertumbuhan, konsentrasi sel, kebutuhan nutrisi, kegiatan enzimatis, dan komposisi sel mikroorganisme [(1)]. Suhu dan lama inkubasi dapat dipergunakan untuk mengendalikan pertumbuhan dan kegiatan bakteri. Suhu dan lama inkubasi di atas suhu maksimal dan waktu inkubasi maksimal akan bersifat mematikan bagi pertumbuhannya. Sedangkan jika suhu dan lama inkubasi diturunkan dibawah suhu maksimal dan lama waktu inkubasi maksimal akan memperpanjang fase lag pertumbuhannya. Salah satu sebab kematian bakteri adalah ter gantung dari suhu

pertumbuhan optimum dan lama waktu inkubasi maksimum bakteri tersebut. Dengan mengetahui suhu dan lama waktu inkubasi optimum, minimum dan maksimum dari bakteri tertentu, dapat diketahui cara pembiakan mikroorganisme dengan baik.

Bakteri *Bacillus sphaericus* dapat ditumbuhkan pada beberapa jenis media pertumbuhan. Media yang umum digunakan adalah media *NYSM* [(4)] dan *MBS* [(2)]. Dengan menggunakan medium pertumbuhan tersebut biakan bakteri *Bacillus sphaericus* akan mencapai fase stasioner pada 12-24 jam dan sporulasi akan tercapai setelah 24 jam (konsentrasi biakan melebihi 10^9 sel/mL). Medium lain yang dapat digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Bacillus Sphaericus* adalah medium *NYST* (*NY Agar/NY Broth*, $MnCl_2$, $CaCl_2$, dan $MgCl_2$) yang mengandung Streptomycin 100 µg/mL. Medium yang lain adalah *BATS* (Na_2HPO_4, K_2HPO_4, $MgSO_4$, $MnCl_2$, $FeSO_4$, $CaCl_2$, L-Arginin, Thiamin dan Biotin) yang merupakan medium selektif yang diperkaya, untuk menumbuhkan dan menyuburkan pertumbuhan bakteri *Bacillus sphaericus* yang diisolasi dari tanah [(5)]. *Bacillus sphaericus* memiliki spora untuk mempertahankan hidupnya, untuk pertumbuhan bakteri memerlukan suhu dan waktu inkubasi yang optimum. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi waktu inkubasi terhadap jumlah sel vegetatif dan spora *Bacillus sphaericus*" pada media NYSM padat dan media NYSM cair.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah sel *vegetative* Jumlah dan spora *Bacillus sphaericus* yang dihitung dengan menggunakan metode langsung (*slide*) dengan luas daerah hitung 1 cm^2 yang diwarnai dengan pewarnaan Spora pada media NYSM padat.Semakin lama waktu inkubasi maka jumlah sel *vegetative* bakteri semakin sedikit dan jumlah spora semakin banyak.

Tabel 4 juga menunjukkan bahwa pada hari pertama dan kedua (1 hari dan 2 hari) waktu inkubasi terdapat rerata jumlah sel *vegetative* 85,7 sel (85,7%) dan spora 14,3 spora (14,3%). Pada hari ketiga dan seterusnya sampai dengan hari ke 10 waktu inkubasi menunjukkan hasil jumlah perhitungan sel *vegetative* bakteri mulai hari ke 3 sampai dengan ke -10 secara berurutan adalah 60,7 (60,7%) ; 36,4 (36,4%),18,4 (18,4%) ;10,4 (10,4%), 8,4 (8,4%);7,7 (7,7%) ,0 (0%) , dan 0 (0%). Jumlah Spora *Bacillus sphaericus* secara berurutan mulai hari ke-3 sampai dengan hari ke-10 adalah 39,4 (39,4%) ,63,7 (63,7%) ,81,7 (81,7%), 89,7 (89,7%), 91,7 (91,7%),92,3 (92,3%),100 (100%), dan 100 (100%). Hasil penelitian juga membuktikan bahwa terdapat perbedaan jumlah sel *vegetative* Jumlah dan spora *Bacillus sphaericus* yang dihitung dengan menggunakan metode langsung (*slide*) dengan luas daerah hitung 1 cm^2 yang diwarnai dengan pewarnaan Spora pada media NYSM cair. Semakin lama waktu inkubasi maka jumlah sel *vegetative* bakteri semakin sedikit dan jumlah spora semakin banyak. Tabel 1 juga menunjukkan bahwa pada hari pertama dan kedua (1 hari dan 2 hari) waktu inkubasi terdapat rerata jumlah sel *vegetative* 100 sel (100%) dan spora 0 spora (0%). Pada hari ketiga dan seterusnya sampai dengan hari ke 10 waktu inkubasi menunjukkan hasil jumlah perhitungan sel *vegetative* bakteri mulai hari ke 3 sampai dengan ke -10 secara berurutan adalah 99,7 (99,7%), ,98 (98%),96,7 (96,7%),90 (90%),89,4 (89,4%),80 (80%),7 (7%), dan 0 (0%). Jumlah Spora *Bacillus sphaericus* secara berurutan mulai hari ke-3 sampai dengan hari ke-10 adalah 0,4 (0,4%),2 (2%),3,4 (3,4%) ,3,4 (3,4%) ,10 (10%) ,10,7 (10,7%) ,22,7(22,7%) dan 100 (100%). Pada media cair jumlah spora bakteri yang terbentuk walaupun menunjukkan semakin lama waktu inkubasi terjadi peningkatan jumlah, namun lebih lambat dan lebih sedikit dibandingkan pada media NYSM padat. Hal ini disebabkan karena pada media cair zat – zat nutrisi anorganik dan organik yang dibutuhkan bakteri tersebar rata atau lebih homogeny, sehingga sel *vegetative* tumbuh subur. Spora oleh bakteri digunakan untuk mempertahankan hidup, semakin lama inkubasi pada media akan menunjukkan nutrisi semakin berkurang, sehingga jumlah spora yang dihasilkan semakin banyak, dan sel *vegetative* bakteri semakin sedikit.

Hasil penelitian secara deskriptif membuktikan bahwa adanya pengaruh antara lama waktu inkubasi terhadap jumlah sel *vegetative* dan spora *Bacillus sphaericus* *NYSM*[(4)] dan *MBS*[(5)]. Dengan menggunakan medium pertumbuhan tersebut biakan bakteri *Bacillus sphaericus* akan mencapai fase stasioner pada 12-24 jam dan sporulasi akan tercapai setelah 24 jam (konsentrasi biakan mebihi 10^9 sel/mL). Medium lain yang dapat digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Bacillus Sphaericus* adalah medium *NYST* (*NY*

Agar/NY Broth, $MnCl_2$, $CaCl_2$, dan $MgCl_2$) yang mengandung *Streptomycin* 100 µg/mL. Medium yang lain adalah *BATS* (Na_2HPO_4, K_2HPO_4, $MgSO_4$, $MnCl_2$, $FeSO_4$, $CaCl_2$, L-Arginin, Thiamin dan Biotin) yang merupakan medium selektif yang diperkaya, untuk menumbuhkan dan menyuburkan pertumbuhan bakteri *Bacillus sphaericus* yang diisolasi dari tanah [(6)]. *Bacillus sphaericus* memiliki spora untuk mempertahankan hidupnya, untuk pertumbuhan bakteri memerlukan suhu dan waktu inkubasi yang optimum.Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi waktu inkubasi terhadap jumlah sel vegetatif dan spora *Bacillus sphaericus*" pada media NYSM padat dan media NYSM cair.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah sel *vegetative* Jumlah dan spora *Bacillus sphaericus* yang dihitung dengan menggunakan metode langsung (slide) dengan luas daerah hitung 1 cm^2 yang diwarnai dengan pewarnaan Spora pada media NYSM padat. Semakin lama waktu inkubasi maka jumlah sel *vegetative* bakteri semakin sedikit dan jumlah spora semakin banyak.

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa pada hari pertama dan kedua (1 hari dan 2 hari) waktu inkubasi terdapat rerata jumlah sel *vegetative* 85,7 sel (85,7%) dan spora 14,3 spora (14,3%). Pada hari ketiga dan seterusnya sampai dengan hari ke 10 waktu inkubasi menunjukkan hasil jumlah perhitungan sel *vegetative* bakteri mulai hari ke 3 sampai dengan ke -10 secara berurutan adalah 60,7 (60,7%) ; 36,4 (36,4%),18,4 (18,4%) ;10,4 (10,4%), 8,4 (8,4%);7,7 (7,7%) ,0 (0%) , dan 0 (0%). Jumlah Spora *Bacillus sphaericus* secara berurutan mulai hari ke-3 sampai dengan hari ke-10 adalah 39,4 (39,4%) ,63,7 (63,7%) ,81,7 (81,7%), 89,7 (89,7%), 91,7 (91,7%),92,3 (92,3%),100 (100%), dan 100 (100%). Hasil penelitian juga membuktikan bahwa terdapat perbedaan jumlah sel *vegetative* Jumlah dan spora *Bacillus sphaericus* yang dihitung dengan menggunakan metode langsung (slide) dengan luas daerah hitung 1 cm^2 yang diwarnai dengan pewarnaan Spora pada media NYSM cair. Semakin lama waktu inkubasi maka jumlah sel *vegetative* bakteri semakin sedikit dan jumlah spora semakin banyak.

Tabel 1 juga menunjukkan bahwa pada hari pertama dan kedua (1 hari dan 2 hari) waktu inkubasi terdapat rerata jumlah sel *vegetative* 100 sel (100%) dan spora 0 spora (0%). Pada hari ketiga dan seterusnya sampai dengan hari ke 10 waktu inkubasi menunjukkan hasil jumlah perhitungan sel *vegetative* bakteri mulai hari ke 3 sampai dengan ke -10 secara berurutan adalah 99,7 (99,7%), ,98 (98%),96,7 (96,7%),90 (90%),89,4 (89,4%),80 (80%),7 (7%), dan 0 (0%). Jumlah Spora *Bacillus sphaericus* secara berurutan mulai hari ke-3 sampai dengan hari ke-10 adalah 0,4 (0,4%),2 (2%),3,4 (3,4%) ,3,4 (3,4%) ,10 (10%) ,10,7 (10,7%) ,22,7(22,7%) dan 100 (100%). Pada media cair jumlah spora bakteri yang terbentuk walaupun menunjukkan semakin lama waktu inkubasi terjadi peningkatan jumlah, namun lebih lambat dan lebih sedikit dibandingkan pada media NYSM padat. Hal ini disebabkan karena pada media cair zat – zat nutrisi anorganik dan organik yang dibutuhkan bakteri tersebar rata atau lebih homogen, sehingga sel *vegetative* tumbuh subur. Spora oleh bakteri digunakan untuk mempertahankan hidup, semakin lama inkubasi pada media akan menunjukkan nutrisi semakin berkurang, sehingga jumlah spora yang dihasilkan semakin banyak, dan sel *vegetative* bakteri semakin sedikit.Hasil penelitian secara deskriptif membuktikan bahwa adanya pengaruh antara lama waktu inkubasi terhadap jumlah sel *vegetative* dan spora *Bacillus sphaericus*..

KESIMPULAN DAN SARAN

Semakin lamanya waktu inkubasi menyebabkan jumlah sel *vegetative* semakin berkurang dan jumlah spora semaki bertambah. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai viabilitas dan kemampuan tumbuh dari *Bacillus sphaericus* yang sudah dalam bentuk spora

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Direktur Poltekkes Kemenkes Mataram, Kepala Instalasi Litbangkes RSU Provinsi NTB yang telah memfasilitasi pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. Badan Pengembangan Sumber Daya Manusia Kesehatan RI. Mikrobiologi Bahan Ajar Keperawatan Gigi. Jakarta: BPPSDMK; 2017.
2. Vanlalhruaia N, Kumar S, Gurusubramanian G. Bacillus sphaericus in the biological control of mosquito vector complex. Sci Vis. 2011;11(2):61–71.
3. Baumann P, Clark MA, Baumann L,

Broadwell AH. Bacillus sphaericus as a mosquito patogen: properties of the organism and its toxin. Microbiol Rev. 1991;55:425–36.
4. Myers M, Yousten AA. Toxic activity of Bacillus sphaericus SSII-1 for mosquito larvae. Infect Immun. 1978;19:1047–53.
5. Kalfon A, Charles J-F, Bourgouin C, De Barjac H. Sporulation of Bacillus sphaericus 2297: an Electron Microscope Study of Crystal-like Inclusion Biogenesis and Toxicity to Mosquito Larvae. Microbiology. 1984;130(4):893–900.
6. Yousten AA, Fretz SB, Jelley SA. Selective Medium for Mosquito-Pathogenic Strains of Bacillus sphaericus. Appl Environ Microbiol. 1985;49(6):1532–3.
7. Notoatmojo Soekidjo. Metodologi penelitian kesehatan. Jakarta.: Rineka Cipta; 2016.
8. Suryadi BF, Yanuwiadi B, Ardyati T, Suharjono S. Evaluation of entomopathogenic Bacillus sphaericus isolated from Lombok beach area against mosquito larvae. Asian Pac J Trop Biomed. 2016;6(2):148–54.
9. Soemarno. Isolasi dan Identifikasi Bacteri Klinik. Yogyakarta: Akademi Analis Kesehatan Yogyakarta Departemen Kesehatan RI; 2000